Lane Medical Library

1938

Aus dem
Hessischen Untersuchungsamt für Infektionskrankheiten.

Ueber den Nachweis von Bakteriophagen in der Lahn und im Bootsteich.

STANFORD LIBRARY

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Medizinischen Fakultät

der

Ludwigs-Universität zu Giessen

vorgelegt von

Karl Felsing

aus Giessen.

Giessen 1938

Buchdruckerei Nitschkowski, Giessen

Aus dem
Hessischen Untersuchungsamt für Infektionskrankheiten.

Ueber den Nachweis von Bakteriophagen in der Lahn und im Bootsteich.

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Medizinischen Fakultät

der

Ludwigs-Universität zu Giessen

vorgelegt von

Karl Felsing

aus Giessen.

Giessen 1938

Buchdruckerei Nitschkowski, Giessen

Gedruckt mit Genehmigung
der Medizinischen Fakultät zu Giessen.

Referent:
Obermedizinalrat Professor Dr. Kliewe.

Meinen lieben Eltern!

Ueber den Nachweis von Bakteriophagen in der Lahn und im Bootsteich.

Die zahlreichen Theorien, die über Bakteriophagen oder Bakterienfresser aufgestellt werden, sind ein Beweis für das grosse Interesse, das die Bakteriophagie bei jedem Bakteriologen hervorruft, und zugleich ein Zeichen für die Schwierigkeiten, die der Lösung des Problems im Wege stehen. All die Hypothesen zu erwähnen, mit deren Hilfe man versucht hat, der Wahrheit auf die Spur zu kommen, ist hier weder möglich noch notwendig.

Der erste, der sich mit der Bakteriophagie beschäftigte, war d'Herelle. Er hält den Bakteriophagen für ein unsichtbares filtrierbares, ultramikroskopisches Lebewesen, das unter gewissen Verhältnissen Bakterien in kurzer Zeit auflösen kann. Dabei scheint jede Bakterienart eigene spezifische Bakteriophagen erzeugen zu können. Dieses lytische Prinzip nimmt während seiner Tätigkeit an Menge zu und kann in endlosen Passagen auf neue Kulturen übertragen werden. Diese Theorie also, die den Bakteriophagen für einen belebten, an Bakterien parasitierenden Mikroben hält, wird nicht von allen Forschern geteilt. Sie nehmen auf Grund zahlreicher Nachuntersuchungen an, dass der Vorgang ein fermentativer Prozess sei, wobei die Bakterienzelle das fermentartig wirkende Produkt liefern soll.

Der Bakteriophage ist in der Natur weit verbreitet. Er wird überall da vorgefunden, wo ein Kontakt mit den Excrementen von Mensch und Tier möglich ist. So kann schon a priori angenommen werden, dass er sich auch in Abwässern, die mit von Menschen oder Tieren herrührenden Entleerungen vermengt sind, befindet. Da ich auch im Abwasser der Giessener Kläranlagen grossen Bakteriophagen-Reichtum feststellte, lag es nahe, den Phagennachweis zum Nachweis von Wasserverunreinigungen genannter Art zu verwenden. Besondere Beachtung schenkte ich bei den Untersuchungen dem Einfluss der Niederschläge und des Wetters auf die Verschmutzung

und den Phagengehalt des Oberflächenwassers. Bei meinen Versuchen ging ich in der Weise vor, dass ich die Wasserproben mit gleichen Teilen Nährbrühe versetzte und nach 24 Stunden Bebrütung bei 37° durch ein Berkefeldfilter keimfrei filtrierte. Die Filtrate wurden nun in der Weise gegen eine grössere Reihe von Bakterienstämmen geprüft, dass zunächst die Agarplatte mit den betr. Bakterien beimpft wurde, dann liessen wir einen Tropfen von dem Phagenfiltrat über die betr. Bakterienkultur hinweglaufen. Nach 24stündiger Bebrütung konnte man, wenn Phagen vorhanden waren, eine kolonienfreie Strasse beobachten.

Die auf Bakteriophagen zu untersuchenden Wasserproben wurden an folgenden Stellen entnommen:

1. Aus dem Abwasser der Kläranlage,
2. etwa 50 m unterhalb des Kläranlagen-Ausflusses,
3. etwa 1500 m unterhalb des Kläranlagen-Ausflusses (150 m oberhalb der Heuchelheimer Brücke),
4. etwa 15 m oberhalb des Kläranlagen-Ausflusses,
5. bei der Müller'schen Badeanstalt,
6. bei der Pulvermühle,
7. aus dem Bootsteich,
8. aus dem Zuflussgraben dieses Teiches.

Das Wetter war während der Entnahmezeiten trüb. In den letzten Tagen vorher hatte es stark geregnet, sodass der Wasserstand der Lahn recht hoch war.

Meine in Tabelle 1 wiedergegebenen Untersuchungsergebnisse zeigen, dass in dem Abwasser der Kläranlage eine starke Bakteriophagenwirkung auf Coli-, Typhus-, Paratyphus-, Kruse-Shiga- und E-Ruhrbazillen nachgewiesen wurde. Es war also trotz Reinigung des Wassers im Absitzbecken der Phagenbestand hoch geblieben. Auch die 2. Wasserprobe aus der Lahn, 50 m unterhalb des Klärbeckens, zeigte noch grossen Phagenreichtum, dessen Ursache zweifellos das Abwasser aus der Kläranlage ist, das also hier in diesem Abschnitt der Lahn noch ziemlich konzentriert war. Trotzdem muss man auch den Anstieg des Lahnwasserstandes und die in den letzten Tagen vor der Wasserentnahme niedergegangenen Regenfälle beachten, die von den Feldern und Wiesen Fäkalien oder sonstige organische Stoffe in den Fluss hineinschwemmen und somit

die Vermehrung von Bakteriophagen im Lahnwasser bedingen können. In der Gegend der Kläranlage bilden flussabwärts fast nur Wiesen und Ackerland die Ufer der Lahn, ab und zu münden links und rechts einige Wassergräben. Es darf mit Sicherheit angenommen werden, dass diese durch vorwiegend ländliches Gebiet verlaufende Flusstrecke bei trockenem und schönem Wetter nur in geringem Umfange unmittelbaren fäkalen Verunreinigungen ausgesetzt ist. Nur flussaufwärts befindet sich an dem linken Ufer hinter der Kläranlage eine Siedlung, die aber kaum verunreinigende Zuflüsse in die Lahn leitet. Die 3. Wasserprobe, ungefähr 1500 m unterhalb des Klärbeckens, wies noch eine fast ebenso starke lytische Kraft gegenüber den angeführten Bakterienarten auf wie diejenige der 2. Entnahmestelle. Für diese Tatsache eine Erklärung zu finden, fällt nicht schwer, wenn man weiss, dass ungefähr 300 m flussabwärts am rechten Ufer das Abwasser des Heuchelheimer Klärbeckens einmündet, dessen geringe Menge allerdings nicht viel zu der Verunreinigung der Lahn beiträgt. Ausserdem muss man ja noch die schon vorher erwähnten Witterungsverhältnisse und den hohen Lahnstand in Betracht ziehen, die wohl die Hauptursachen für den Bakteriophagenreichtum darstellen. Die 4. Entnahme, ungefähr 15 m oberhalb der Kläranlage, enthielt im wesentlichen Bakteriophagen gegen Ruhr- und Colibakterien, dagegen schwache Bakteriophagen gegen Keime der Typhus- und Parathyphusgruppe. Dasselbe Ergebnis wies ungefähr das Lahnwasser der 5. und 6. Probe, also bei der Müller'schen Badeanstalt und bei der Pulvermühle auf.

Diese nach einer niederschlagsreichen Zeit gemachten Untersuchungen verglich ich nun mit den Untersuchungen bei schönem und trocknem Wetter und normalem Lahnstand. Dabei ergab sich, wie aus der Tabelle zu ersehen ist, dass an denselben Entnahmestellen, wo vorher bei nasser Witterung Bakteriophagenreichtum vorhanden war, jetzt bei trocknem Wetter Bakteriophagenarmut oder sogar das Fehlen von Phagen festzustellen war. In hygienischer Hinsicht ist es sehr erfreulich, dass 15 m oberhalb der Einmündung des Kläranlage-Ausflusses, bei guten Verhältnissen eine starke Abnahme oder sogar Fehlen an Bakteriophagen

beobachtet werden konnte. Obwohl unter denselben Bedingungen das Lahnwasser unterhalb des Klärbeckens noch gegen Typhusbazillen wirksame Bakteriophagen enthielt, waren solche 15 m oberhalb des Kläranlage-Ausflusses und noch weiter flussaufwärts bei der Badeanstalt und bei der Pulvermühle nicht mehr nachzuweisen. Dies hängt wohl damit zusammen, dass der Kläranlage-Ausfluss nicht am Ufer, sondern in der Mitte der Lahn unter dem Wasserspiegel direkt von der Strömung erfasst und flussabwärts geführt wird. Die Wasseruntersuchungen bei der Badeanstalt und bei der Pulvermühle zeigten bei trockenem Wetter nur eine schwache Phagenwirkung gegen die Ruhrstämme und eine noch schwächere gegen Colibakterien. Solche positiven Befunde haben aber nichts zu bedeuten, sie treten nämlich auch da auf, wo das Wasser nicht bedenklich verunreinigt ist. Es spricht für die Sauberkeit der Giessener Bevölkerung, dass die Lahn innerhalb der Stadt von gröberen Verunreinigungen verschont bleibt, was aber hauptsächlich auf eine gute Kanalisation, die sämtliche Abwässer und Kanäle nach dem Klärbecken hin ableitet, zurückzuführen ist.

Dann untersuchte ich noch den neu angelegten Bootsteich (7. Entnahmestelle), der an der einen Längsseite von Wiesen, an der anderen von Anlagen begrenzt wird. Man kann daher wohl annehmen, dass dieser Teich bei anhaltendem trockenem Wetter gegen unmittelbare fäkale Verunreinigungen geschützt ist. Der Teich wird durch einen von der Wieseck abgehenden Zuflussgraben (8. Entnahmestelle) gespeist, der allerdings nach dem Phagenbefund und den bakteriologischen und chemischen Untersuchungen von Gewecke (1) Verunreinigungen mit sich führt. Während bei schönem Wetter das Teichwasser annähernd phagenfrei war, so konnte nach vorausgegangenen Niederschlägen eine deutliche Zunahme, insbesondere der Bakteriophagen gegen Coli-, Typhus-, Paratyphus-, Kruse-Shiga- und E-Ruhrbazillen, beobachtet werden. Im ganzen ergaben also meine Untersuchungen, dass bei Verschmutzung der Lahn und des Bootsteiches durch atmosphärische Niederschläge neben einer stärkeren auch eine vielseitigere Phagenwirkung auftrat. Aus dieser Feststellung folgerte ich, wie auch schon Gildemeister und Watanabe (2), dass das Regenwasser

von den gedüngten Feldern und Wiesen tierische oder menschliche Fäkalien in das Flusswasser hineinschwemmt, und dadurch die Bakteriophagenvermehrung bedingt ist. Gildemeister und Watanabe (2) bezeichneten solche Verunreinigungen als sekundäre, während die primären unmittelbar, ohne Mitwirkung von Niederschlägen in einen Fluss hineingelangen. Die wichtigste Vorbedingung zur Feststellung der letzteren ist aber, dass während der vorhergehenden letzten 5 Tage keine Regenfälle erfolgt sind. Da es als allgemeine Regel gilt, dass der Bakterienstamm, der Anlass zur Phagenvermehrung gibt, in der Vermehrung befindlich sein muss, so lässt ein Phagenreichtum im Oberflächenwasser auf dessen Verunreinigung schliessen. Man kann wohl mit ziemlicher Sicherheit behaupten, dass die Feststellung des primären Verunreinigungsgrades eines Wassers mit Hilfe der Bakteriophagenbestimmung eine beachtenswerte praktische Bedeutung für die hygienische Beurteilung von Wässern haben kann. Mit diesem Verfahren lassen sich leicht viele Verunreinigungsquellen eines Flusses auffinden. Wie aus den Tabellen ersichtlich ist, scheinen primäre fäkale Verunreinigungen der Lahn während ihres Verlaufes durch Giessen nicht zuzufliessen, was vom hygienischen Standpunkt aus sehr zu begrüssen ist Weiterhin kann man feststellen, dass das Wasser der Lahn unterhalb der Kläranlage bakteriophagenreich ist und es auch ungefähr bis zur Heuchelheimer Brücke ohne grössere Veränderung bleibt. Ich gehe wohl nicht fehl, wenn ich hieraus folgere, dass hier die primären fäkalen Verunreinigungen dem Flusse ständig in bedeutendem Umfange zugehen. Aus meinen Bakteriophagenbefunden kann noch gefolgert werden, dass die Lahn oberhalb des Klärbeckens relativ sauber ist und keine erheblichen Zuflüsse an primären fäkalen Verunreinigungen erhält.

Aus vielen Untersuchungen ist bekannt, dass alle Oberflächengewässer, die mehr oder weniger der Verunreinigung ausgesetzt sind, die Eigenschaft haben, ihre an sich hohe Keimzahl stark zu vermindern und speziell pathogene Keime gänzlich zum Verschwinden zu bringen. Man führt diese auffällige Eigenschaft auf den sogen. Selbstreinigungsprozess der Flüsse zurück. Dabei spielen teils mechanische, teils

biologisch-chemische Momente zweifellos eine grosse Rolle. Es ist nun eine interessante Frage, diesen sogenannten Selbstreinigungsprozess des Wassers in Zusammenhang zu bringen mit dem bakteriophagen Lysin d'Herelles. Während ein Teil der Forscher die Ansicht vertritt, dass die Bakteriophagen für die Selbstreinigung der Flüsse ohne Bedeutung sind, wird andererseits ein solcher Vorgang doch für wahrscheinlich gehalten. So erklärt d'Herelle diesen Untergang der Mikroben mit der Wirkung des Bakteriophagen und in diesem Sinne auch die baktericiden Eigenschaften des Wassers. Da ich je nach dem Wetter im Lahnwasser bald schwächere, bald stärkere und vielseitigere Phagenwirkung beobachten konnte, so muss man daraus schliessen, dass unter günstigen Verhältnissen Bakteriophagen Ba terien im verunreinigten Oberflächenwasser vernichten können und so an der Selbstreinigung der Flüsse beteiligt sind. Dieses Ergebnis bestätigt uns zugleich, dass die Bakteriophagen in der Natur beim Aufrechterhalten des biologischen Gleichgewichtes der lebenden Organismen durch Vernichtung von Bakterien eine Rolle spielen.

Es wäre noch interessant zu erwägen, ob zwischen dem Bakteriophagenbefund des Oberflächenwassers und den hier im Lande vorkommenden Typhus-, Paratyphus-, bezw. Ruhrerkrankungen irgendwelche Beziehungen bestehen könnten. Man müsste also noch klarstellen, ob jede Bakterienart von einem homologen Bakteriophagen begleitet wird. Das Vorkommen spezif. Bakteriophagen im menschlichen Stuhl scheint im allgemeinen an das Vorhandensein homologer Krankheitsfälle gebunden zu sein, für das Vorkommen der Phagen im Flusswasser kann ein obligater Zusammenhang zwischen bestimmten Phagen und homologen Bakterien nicht zutreffen. So wurden z. B. Cholera- und Pestphagen in sicher krankheitsfreien Gegenden gefunden. Es ist daher anzunehmen, dass Phagen, die nicht von der homologen Bakterienart begleitet sind, sich nur durch Auflösen anderer Bakterien behaupten können, also polyvalent sind. Auch für die sogenannten monovalenten Phagen ist dies anzunehmen, die Polyvalenz ist nur nicht ohne weiteres nachweisbar, da sie unbekannte Bakterienarten betreffen kann. Ueber die

Frage nach der Herkunft der Bakteriophagen in der Natur, der Polyvalenz und nach etwaigen epidemiolog. Zusammenhängen zwischen bestimmten Phagen und Erkrankungen untersuchten C. J. Schuurmann und A. M. Schuurmann-ten Bokkel Huinink (3) das Wasser eines Flusses auf Java, der quer durch Batavia fliesst und stark fäkal verunreinigt wird, auf Bakteriophagen, insbesondere auf Ty-Phagen Das regelmässige Vorkommen von Ty-Phagen war besonders geeignet, die Frage nach dem Zusammenhang mit der homologen Bakterienart vom epidemiolog. Standpunkt aus zu untersuchen. Die beiden Forscher stellten fest, dass von 44 isolierten Typhusphagen sich 20 als monovalent, 24 dagegen als polyvalent erwiesen. Ty-Bakterien konnten auch bei Verarbeitung von 92 l Wasser und 1 l Schlamm innerhalb eines halben Jahres nicht gefunden werden, Bakteriophagen gegen Typhusbazillen dagegen meistens schon in 0,1 ccm Wasser. Es ist somit möglich, dass sich die Ty-Phagen auf Kosten anderer Bakterienarten erhalten und fortpflanzen. Die Phagen fanden sich wesentlich an den festen Partikeln des Wassers adsorbiert. Wurde Wasser zuerst filtriert und dann für den Phagennachweis verwendet, so war der Phagentiter bedeutend niedriger, als wenn das Wasser unfiltriert benutzt wurde. Bodenschlamm erwies sich auch nach 3 Wochen langem täglichen Auswaschen mit Bouillon als unerschöpflich an Bakteriophagen. Es handelt sich hierbei zweifellos um eine autochthone Produktion der Ty-Phagen, da es nicht wahrscheinlich gemacht werden konnte, dass hierfür etwa die Anzahl von Typhuskranken verantwortlich zu machen sei. Bei der Untersuchung von 329 Personen fanden sich nur 6,7 % Ty-Phagen im Stuhl und zwar bei 55 Ty-Fällen auch nur in 7,3 % Der Prozentsatz der Ty-Phagen produzierenden Bevölkerung war daher nur auf 6 — 7 % zu schätzen, er war somit zu klein, um den enormen Gehalt dieses Flusses auf Java an Ty-Phagen zu erklären. Die beiden Forscher kamen also zu dem Schluss, dass dieser hohe Ty-Phagengehalt nichts mit der Anzahl der Ty-Kranken zu tun hat. Trotzdem aber lassen sie noch die Frage offen, ob diesen Phagen daher keine epidemiolog. Bedeutung zukommen werde. Auch die von mir in der Lahn besonders unterhalb der Kläranlagen

nachgewiesenen Ty-Phagen, dürften sich wohl auf Grund ihrer Polyvalenz behaupten können. Da in der Zeit meiner Untersuchungen und auch schon Monate vorher weder in Giessen noch flussabwärts im Lahngebiet eine Ty-Epidemie beobachtet worden war, die man sonst als Ursache für das Auftreten der entsprechenden Bakteriophagen im Lahnwasser hätte ansehen können, so kann man folgern, dass die Anwesenheit von Ty-Phagen offenbar nicht auf das Vorkommen von Ty-Bazillen in der Lahn hinzudeuten braucht. Es ist daher ziemlich unwahrscheinlich, dass den Ty-Bakteriophagen mit Rücksicht auf ihre Polyvalenz eine epidemiolog. Bedeutung zuzuschreiben ist. Wenn auch einmal unter gewissen Umständen einige Ty-Bazillen im Lahnwasser auftreten sollten, so sind diese für das Zustandekommen einer Ty-Infektion wohl von minderer Bedeutung, wenn wir die grosse Verdünnung und die Selbstreinigung des Flusswassers in Betracht ziehen.

Zusammenfassung.

Ich habe das Vorkommen von Bakteriophagen in Oberflächengewässern studiert und bin zu Ergebnissen gekommen, die für die Wasserhygiene nicht ohne Interesse sein dürften.

1. Im Wasser der Lahn und des Bootsteiches waren bei trockenem Wetter keine oder nur wenige Bakteriophagen, nach einer niederschlagsreichen Zeit eine grosse Anzahl der verschiedensten Bakteriophagen vorhanden. Der letztere Befund wird auf Einschwemmung fäkaler Verunreinigungen zurückgeführt.

2. Der Bakteriophagengehalt eines Wassers ist in hohem Masse von den hygienischen Verhältnissen in der nächsten Umgebung der Wasserstelle abhängig. So konnte ich z B. in der Lahn unterhalb der Einmündung des Kläranlageausflusses eine deutliche Zunahme der Bakteriophagen auch bei schönem Wetter beobachten. Unter hygienisch günstigen Bedingungen liegende Oberflächenwasser waren dagegen nach trockenem Wetter stets bakteriophagenarm oder -frei.

3. Die Bakteriophagenbestimmung kann für die Feststellung des primären fäkalen Verunreinigungsgrades des Wassers sicher einen beachtlichen Beitrag liefern. Diese Methode gibt uns zugleich auch einen gewissen Anhalt für den Reinheitsgrad eines Flusses.

4. Unter günstigen Umständen können Bakteriophagen in einem unsauberen Oberflächenwasser Bakterien vernichten und so an der Selbstreinigung des Wassers mithelfen.

5. Da sich die Ty-Phagen mittels ihrer Polyvalenz auf Kosten anderer Bakterien behaupten können, so halte ich es für unzulässig, die posititiven Befunde von Ty-Bakteriophagen im Lahnwasser als einen Beweis von Anwesenheit der entsprechenden pathogenen Mikroben anzusehen. Man kann daher wohl annehmen, dass dem Vorkommen von Ty-Phagen in der Lahn keine epidemiolog. Bedeutung beizumessen ist.

Literatur.

1. Gewecke: Ueber die Wieseck oberhalb der Stadt Giessen und ihren Einfluss auf das Wasser des Bootsteiches. Dissertation Giessen 1937.
2. Gildemeister u. Watanabe, Zbl. Bakter. I Orig. 122, 556 (1931).
3. C. J. Schuurman u. A. M. Schuurman-ten Bokkel Huinink, Zbl. Bakter. I Orig. 132, 321 (1934).
4. C. J. Schuurman, Zbl. Bakter. I Orig. 136, 129 (1936).
5. Nyberg, Zbl. Bakter. I Orig. 122, 270 (1931).

Lebenslauf.

Ich, Karl Felsing, wurde am 31. Januar 1913 zu Giessen a. d. Lahn als Sohn des Chemikers Karl Felsing und dessen Ehefrau Luise, geb. Terjung geboren. Ich besuchte 3 Jahre die Volksschule in Giessen, dann das Realgymnasium daselbst bis zur Obersekunda. Daraufhin trat ich in die Oberrealschule zu Butzbach ein, wo ich Ostern 1932 die Reifeprüfung ablegte. Anschliessend studierte ich an der Universität Giessen Medizin und bestand nach 5 vorklinischen Semestern dort das ärztliche Vorexamen. Während meiner 6 klinischen Semester war ich ebenfalls in Giessen immatrikuliert und bestand am 27. November 1937 das ärztliche Staatsexamen in Giessen. Seit dem 1. Dezember 1937 bin ich als Medizinalpraktikant in der hiesigen Medizinischen Klinik tätig.

Zum Schlusse meiner Arbeit möchte ich Herrn Obermedizinalrat Professor Dr. Kliewe für seine Anregungen und die Ueberlassung des Materials herzlichst danken.